

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開号

特開平5-192179

(43)公開日 平成5年(1993)8月3日

(51)Int.Cl.*	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 12 P 21/08		8214-4B		
G 01 N 33/53	K	8310-2J		
33/577	B	9015-2J		
		7236-4B	C 12 N 5/00	B
		8931-4B	15/00	C

審査請求 未請求 請求項の数6(全10頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平3-229728	(71)出願人	000003311 中外製薬株式会社 東京都北区浮間5丁目5番1号
(22)出願日	平成3年(1991)8月16日	(72)発明者	児玉 雄彦 東京都品川区上大崎2-13-22-909
(31)優先権主張番号	特願平2-222398	(72)発明者	松本 明世 東京都新宿区早稲田弦巻町570番地
(32)優先日	平2(1990)8月27日	(72)発明者	鈴木 宏志 東京都豊島区高田3-41-8 中外製薬株式会社内
(33)優先権主張国	日本 (JP)	(74)代理人	弁理士 青木 朗 (外4名)

(54)【発明の名称】 抗ヒトスカベンジャー・レセプター抗体

(57)【要約】 (修正有)

【目的】 マクロファージの同定や定量及び動脈硬化症の診断に有効なヒトスカベンジャー・レセプターに対する抗体の提供。

【構成】 マクロファージには特異的に結合するが、しかしマクロファージ系細胞以外の単核食細胞には結合しない性質を有する抗ヒトスカベンジャー・レセプター抗体。

1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】マクロファージには特異的に結合するが、しかしマクロファージ系細胞以外の単核食細胞には結合しない性質を有する抗ヒトスカベンジャーレセプターアン体。

【請求項2】前記抗体が配列番号：1又は配列番号：2に示すアミノ酸配列1～451からなる蛋白質又はその一部からなるペプチドを抗原として免疫した哺乳動物の血液中より単離されたポリクローナル抗体である請求項1記載の抗体。

【請求項3】前記抗体が配列番号：1又は配列番号：2に示すアミノ酸配列1～451からなる蛋白質又はその一部からなるペプチドを抗原として予め免疫された哺乳動物の脾細胞と哺乳動物の骨髓腫細胞ラインとの細胞融合によって形成されたハイブリドーマによって生産されたモノクローナル抗体である請求項1記載の抗体。

【請求項4】配列番号：1又は配列番号：2に示すアミノ酸配列からなる蛋白質又はその一部からなるペプチドを抗原として用いて哺乳動物を免疫したのちその動物の血液中より抗体を単離することを特徴とする請求項1に記載の抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体の製法。

【請求項5】配列番号：1又は配列番号：2に示すアミノ酸配列からなる蛋白質又はその一部からなるペプチドを抗原として用いて免疫した哺乳動物の脾細胞と哺乳動物の骨髓腫細胞ラインとからの細胞融合によって形成されたハイブリドーマを培養し、その培養上清より抗体を単離することを特徴とする請求項1に記載の抗ヒトスカベンジャーレセプターモノクローナル抗体の製法。

【請求項6】配列番号：1に記載の抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体と摘出されたヒト組織とを反応せしめることを特徴とするヒト諸組織におけるマクロファージの同定およびそれらの分布を検索する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、マクロファージの同定や定量及び動脈硬化症の診断に有効なヒトスカベンジャーレセプター（以下「hSR」という場合がある）に対する抗体（以下、抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体といい、抗hSR抗体という場合がある）に関する。

【0002】

【従来技術】動脈硬化は、コレステロールとリボ蛋白質との複合体である低比重リボ蛋白質（LDL）の変性を取り込んだマクロファージが泡沫細胞に変化して血管内皮細胞下に蓄積することにより惹起されると考えられている。スカベンジャーレセプターはマクロファージの細胞膜に存在し、変性したLDLと結合してそれを細胞内に取り込む際に機能する蛋白質である。

【0003】更にスカベンジャーレセプターは、生体内で種々の変性物、ウィルス等の異物、エンドトキシンなどの生理活性物質の除去に関与している可能性がある。

従って、スカベンジャーレセプターの作用機序を解明することは、動脈硬化の発症機構を解明し、さらにその診断、予防及び治療法、並びにそれらのための試薬や医薬を開発するために重要であると考えられる。

【0004】また、マクロファージ及び網内系の機能の解明にも重要である。これらの解明に重要な役割を果たすものとして、スカベンジャーレセプターに対する抗体が挙げられる。ウシスカベンジャーレセプター遺伝子並びにウシスカベンジャーレセプターに対する抗体は児玉等によって報告されている（T. Kodama等；Nature, 343: 570-572, 1990）。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】ヒトスカベンジャーレセプターの遺伝子は、ウシスカベンジャーレセプター遺伝子に次いで児玉等によりクローニングされた。ヒトスカベンジャーレセプターはウシスカベンジャーレセプター遺伝子と同様、I型とII型が存在し、そのDNA配列及びアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：1又は配列番号：2に示すとおりである。これらの遺伝子はいずれも新規なものである。

【0006】このヒトスカベンジャーレセプターの作用機序を解明することが、ヒトの動脈硬化症の発症機構の解明、さらにはその診断、予防、治療へつながる。このためには抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体が有用となるが、この抗体は未だ知られていない。本発明はこの抗体を提供しようとするものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者等は上記ヒトスカベンジャーレセプター蛋白及び配列番号：1に示すアミノ酸配列情報の一部を利用して合成したペプチドを抗原として用い、常法に従い抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体を作製した。

【0008】そしてこの抗体を用いてマクロファージの同定を行った結果、マクロファージに対し極めて高い結合特異性を示した。このことは当該抗体がマクロファージの細胞膜上に存在するヒトスカベンジャーレセプターに対し、極めて高い特異性を有する抗体であることを意味するものであり、この知見に基づき本発明を完成した。即ち本発明は、抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体に関する。更に詳しくは①マクロファージには特異的に結合するが、②マクロファージ系細胞以外の単核食細胞には結合しない性質を有する抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体に関する。

【0009】さらに本発明は配列番号：1又は配列番号：2に示すアミノ酸配列からなる蛋白質又はその一部からなるペプチドを用いて哺乳動物を免疫したのち、その動物の血液中より抗体を単離することを特徴とする前記の抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体の製法に関する。さらには配列番号：1又は配列番号：2に示すアミノ酸配列からなる蛋白質又はその一部からなるペプチド

3

を抗原として利用して免疫した哺乳動物の脾細胞と哺乳動物の骨髓腫細胞ラインからの細胞融合によって形成されたハイブリドーマを培養し、その培養上清より前記の抗体を単離することを特徴とする抗ヒトスカベンジャーレセプターモノクローナル抗体の製法に関する。

【0010】本発明はまた抗ヒトスカベンジャーレセプター抗体を検出されたヒト組織と反応せしめることを特徴とするヒト織組織におけるマクロファージの同定およびそれらの分布を検索する方法に関する。

【0011】

【具体的な説明】本発明の抗体は上記した如く、①マクロファージに特異的に結合するが、②マクロファージ系細胞以外の単核食細胞には結合しない性質を有するIgGに属する抗体である。モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体の製造方法自体は、当業者によく知られた方法であり、例えばモノクローナル抗体を产生するハイブリドーマの製法は、オーエイ等の方法 (Vernon T. OI: SELECTED METHOD IN CELLULAR IMMUNOLOGY, pp351-372. Freeman, 1980) 等が知られている。

【0012】本発明の抗体は、配列番号：1（ヒトスカベンジャーレセプターI型）又は配列番号：2（ヒトスカベンジャーレセプターII型）に示すアミノ酸配列からなる蛋白或いは当該配列の一部、例えば配列番号：1に示すアミノ酸配列の第199～209からなるペプチド（以下 bSR I-1 とする）、同第325～342からなるペプチド（以下 bSR I-2 とする）、同第401～419からなるペプチド（以下 bSR I-3 とする）又は配列番号：2に示すアミノ酸配列の第342～358からなるペプチド（以下 bSR II-1 とする）のいずれかとウシ血清アルブミン(BSA)等のごとき高分子物質とをコンジュゲートして作成した抗原を用いて、上記の如き自体公知の抗体の製法に従って製造することができる。

【0013】モノクローナル抗体を作製する場合には、例えば上記の如くして作製した抗原をマウスに投与し、免疫されたマウスの脾細胞を取り出し、これとマウス骨髓腫細胞とを融合させてハイブリドーマを作製する。次いで得られたハイブリドーマを培養し、培養上清より抗hSR抗体を回収することができる。

【0014】

【実施例】以下に実施例によって本願発明を詳細に説明するが、本願発明はこれらに限定されるものではない。

【0015】実施例1. ポリクローナル抗体

(1) 抗原の調製及び免疫

配列番号：1に示されるアミノ酸配列の第199～209からなる部分ペプチド「bSR I-1」、同第325～342からなる部分ペプチド「bSR I-2」、同第401～419からなる部分ペプチド「bSR I-3」と並びに配列番号：2に示されるアミノ酸配列の第342～358からなる部分ペプチド「bSR II-1」をそれぞれペプチド合成機（アプライドバイオシステムズ社／モデル430A）を用いて常法に従い合成した。この部分ペプチドをMBSを用いて、常法に従ってサイログロブリンとコンジュゲートして抗原とし、この100μgをプロイントの完全アジュバントとともに6週齢のBALB/c 雄マウスに皮下投与した。3週間後に前記抗原10μgを前記アジュバ

4

430A）を用いて常法に従い合成した。

【0016】これらの部分ペプチドをそれぞれウシ血清アルブミンとm-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシサクシニミドエステル(MBS)を用いて、常法に従いコンジュゲートし抗原を作製した。これらの抗原それぞれ500μgをプロイントの完全アジュバントと共に2～3ヶ月齢のウサギの皮下に投与し、以後3週間おきに4回追加投与して免疫した。

【0017】(2) 抗体価の測定

10 各免疫後1週間に耳静脈より採血し、血清中の抗hSR抗体価を以下に示すELISA法で調べた。即ち、96穴のELISA用プレートに特異抗原（上記部分ペプチド「bSR I-1」、「bSR I-2」、「bSR I-3」又は「bSR II-1」がそれぞれ10μg/mlとなるように0.1M NaHCO₃で希釈した溶液）を50μl/穴ずつ分注し、4℃で一晩放置して抗原をプレート穴底面にコートした。

20 【0018】次いでリン酸緩衝生理食塩水(Phosphate Buffered Saline/PBS)で洗浄後、3%ゼラチンでプレート底面上の蛋白質結合性残基をコートした。上記プレートに段階希釈した試料（ウサギ血清、又は精製抗体）を100μl/穴ずつ分注し、室温で1時間放置した。次いでPBSで4回洗浄したのち、第2次抗体としてヤギの抗ウサギIgGの2000倍或いは3000倍希釈を100μl/穴ずつ分注し、室温で1時間放置した。

30 【0019】PBSで洗浄後、基質液(Na₂HPO₄・12H₂O 12g、サリチル酸1g、クエン酸1水和物3.8g、30% H₂O₂ 0.5mlを水1リットルで溶解したもの、pH 6.0) 1mlあたり3mgの割合で溶解したo-フェニレンジアミン100μlを加え（使用直前に調整）、室温遮光し、10～20分間放置してから反応停止液(8N H₂SO₄) 25μl/穴添加した。次いで発色をOD 492nmとOD 610nmで吸光度測定した。判定においては、陰性コントロール（正常ウサギ血清）との差が0.05以上のものを陽性とした。

40 【0020】この結果、bSR I-1、bSR I-2、bSR I-3及びbSR II-1の抗原に対する抗血清は、それぞれ対応する抗原に対して1:10,000、1:100,000、1:10,000及び1:10,000の力値を示した。IgGの精製が必要な場合には、DEAE-セファロースカラム、プロテインA-セファロースカラムなどに通塔した。

【0021】実施例2. モノクローナル抗体

(1) 免疫

配列番号：1に示されるアミノ酸配列の第325～342からなる部分ペプチド「bSR I-2」をペプチド合成機（アプライドバイオシステムズ社／モデル430A）を用いて常法に従い合成した。この部分ペプチドをMBSを用いて、常法に従ってサイログロブリンとコンジュゲートして抗原とし、この100μgをプロイントの完全アジュバントとともに6週齢のBALB/c 雄マウスに皮下投与した。3週間後に前記抗原10μgを前記アジュバ

ントとともに腹腔内に投与した。

【0022】(2) 細胞融合

第2回目の免疫から3日後に、マウスの脾臓を摘出し、脾細胞を RPMI1640 培地に懸濁した。この脾細胞 1×10^8 個を 3×10^7 個の 8-アザグアニン耐性骨髓細胞腫 P3X 63-Ag8.653 (ATCC CRL 1580) とポリエチレングリコール (平均分子量: 4000ダルトン) を用いて融合した。細胞は 96 穴マイクロプレート 5 枚に分配した。24時間後に、上清の半分を HAT 培地で置き換えた。さらに1週間後には上清を HAT 培地で置き換えた。2~3週間後には HAT 耐性細胞 (ハイブリドーマ) が増殖するのが観察された。

【0023】(3) ハイブリドーマの選択及びモノクローン化

マイクロプレート中の培養上清 $10 \mu\text{l}$ を hSR I-2 部分ペプチドをコートしたマイクロプレートに入れ、室温で1時間放置後、PBS で4回洗浄した。そこへ 100 倍に希釈したペルオキシダーゼをコンジュゲートした抗マウス IgG 抗体を加え、1時間室温で反応させた。次いで3回の洗浄後、O-フェニレンジアミンを加えて発色させ、その発色度を測定して、hSR I-2 と強く反応する抗体を分泌するハイブリドーマを選択した。モノクローン化はこの選択したハイブリドーマをフィーダー細胞にマウス胸腺或いは脾細胞を用い、限界希釈法に2度かけることによって行った。

【0024】(4) 抗 hSR I-2 抗体の製造

(4)-1. *in vitro* 法

上記(3)で得られたハイブリドーマを 10% ウシ胎児血清 (FCS) を含む RPMI1640 培地中で培養し、その培養上清より常法にしたがって回収した。

(4)-2. *in vivo* 法

2, 6, 10, 14-テトラメチルペンタデカンをマウス腹腔内に投与し、その4日後に、上記(3)で得たハイブリドーマ 5×10^6 個を腹腔内に投与した。投与後 4~10 日で、高濃度の抗体を有する腹水が得られた。この腹水からの抗体の回収は硫酸アンモニウム塩析法、DEAE-セファロースカラム法、プロテインA-セファロースカラム法のごとき常法により行うことが出来る。

【0025】実施例3. 抗 hSR 抗体の特異性

ヒト剖検例および手術時に得られた大動脈の粥状硬化病変部について、免疫組織学的検索を以下のとおり行った。ヒト大動脈を過ヨウ素酸-リジン-パラホルムアルデヒド固定し、OCT (Miles, Elkhart, IN) で包埋した。次いでドライアイス-アセトンで凍結し、 $6 \mu\text{m}$ の凍結切片とした。切片を正常ウサギ血清、EBM11(抗ヒトマクロファージモノクローナル抗体、Dakopatts, No. M7 18 Denmark) 或いは抗 hSR I-2 抗体 (IgG, ポリクローナル抗体) とそれぞれ室温で1時間反応させた。

【0026】この後、ペルオキシダーゼをコンジュゲートした抗マウス IgG 又は同じく抗ウサギ IgG を 2 次

10

抗体として用い、それぞれ室温で1時間反応させた後、3, 3' -ジアミノキシベンチジン四塩酸塩で発色させ、ヘマトキシリソで核を染色した。なお、脂質はオイルレッドOを用いて染色した。この結果、粥状硬化病変部の内膜に抗 hSR I-2 抗体陽性細胞が認められた (図 1-D)。この抗 hSR I-2 抗体陽性細胞は、EBM11 陽性細胞であるとともに (図 1-C)、脂質の蓄積を伴っていることが明らかとなり (図 1-B)、当該細胞がマクロファージの性質を示すことを認めた。このスカベンジャー受容体陽性細胞の存在は、用いた粥状硬化病変部組織 8 検体全てに認められた。

【0027】抗 hSR I-2 抗体は動脈硬化病変部のマクロファージのみならず、肝のクッパー細胞、肺胞マクロファージ等とも陽性の反応を示した。抗 hSR I-2 抗体陽性細胞は、マクロファージ/モノサイト特異的抗体である EBM11 陽性細胞と一致することから、マクロファージ系の細胞のみを認識していることが証明された。

【0028】実施例4. 抗ヒトスカベンジャー受容体(hSR) 抗体を用いた細胞内のヒトスカベンジャー受容体(hSR) の局在の観察

20

ヒト肺胞マクロファージについて、抗 hSR 抗体を用いて hSR の細胞内局在を、免疫電子顕微鏡法により観察した。先ず、肺胞洗浄法により採取したヒト肺胞マクロファージをプラスチックシャーレ (35mm) 内で無血清の培養液 (RPMI1640 / 日本製薬製) を用いて1時間培養した後、2% 過ヨウ素酸-リジン-パラホルムアルデヒドで1時間固定し、さらに 0.1% グルタルアルデヒドで10分間固定した。

30

【0029】次いで、実施例1において作製した抗 hSR I-1 抗体、抗 hSR I-2 抗体、抗 hSR I-3 抗体及び抗 hSR II-1 抗体をそれぞれ一次抗体として用い、また、二次抗体としてペルオキシダーゼをコンジュゲートしたヤギ抗ウサギ IgG [F(ab')₂] (Amersham, UK) を用い、それぞれ室温で1時間反応させた後、3, 3' -ジアミノキシベンチジン四塩酸塩で発色させた。そしてオスミウム酸で再固定し、アルコール系列で脱水し、そのままエボン樹脂をシャーレに流し込んで電子顕微鏡用標本とした。

40

【0030】超薄切片作製後は、無染色のまま電子顕微鏡 (JEOL2000EX / 日本電子製) で観察した。また、一次抗体を抗 hSR 抗体の代わりに正常ウサギ IgG としたものを Negative Control として同様に処理し、電子顕微鏡で観察した。この結果、抗 hSR I-1 抗体、抗 hSR I-2 抗体、抗 hSR I-3 抗体及び抗 hSR II-1 抗体を用いたものは、それぞれ図 2 の B、図 2 の C、図 2 の D 及び図 2 の E に順次示す如く、全てのヒトマクロファージ細胞膜に反応が認められ、一部についてはエンドソームの膜にも発現の局在が観察されたが、Negative Control には観察されなかった (図 2 の A)。

50

【0031】なお、好中球の細胞表面にはスカベンジャー

ーレセプター(hSR)が存在しないことを、抗hSR I-1抗体を一次抗体として用いたと同様の方法により行い、図2のFに示す如きNegativeの結果から確認した。抗hSR I-3抗体は、hSRタイプIのシスティンリッチなC末端ペプチド特異的抗体であり、抗hSR II-1抗体はhSRタイプIIのC末端ペプチド特異的抗体であることから、マクロファージにはhSRタイプIとタイプIIの双方が発現していることが明らかとなった。

【0032】

【発明の効果】本発明の抗hSR抗体は、マクロファージ特異性の極めて高いものであり、これを用いてマクロファージの同定や定量などに利用することができる。すなわち、本抗体を病理・組織学的検討に用いることによって、動脈硬化の進展の程度を検索することが可能となる他、マクロファージの出現を特徴とする病態の解析に用いることができる。例えば、スカベンジャーレセプターは、脳への発現も知られており、脳における蓄積性疾

10

【0034】

【配列表】配列番号：1
配列の長さ：1982
配列の型：核酸
鎖の数：二本鎖
トポロジ：直鎖状
配列の種類：cDNA

配列

AGAGAAGTGG ATAAATCACT GCTGCCTTCT TTAGGACCAA AGAACT	-1
ATG GAG CAG TGG GAT CAC TTT CAC AAT CAA CAG GAG GAC ACT GAT	45
Met Glu Gin Trp Asp His Phe His Asn Gin Glu Glu Asp Thr Asp	
5 10 15	
AGC TGC TCC GAA TCT GTG AAA TTT GAT GCT CGC TCA ATG ACA GCT	90
Ser Cys Ser Glu Ser Val Lys Phe Asp Ala Arg Ser Met Thr Ala	
20 25 30	
TTG CTT CCT CCG AAT CCT AAA AAC AGC CCT TCC CTT CAA GAG AAA	135
Leu Leu Pro Pro Asn Pro Lys Asn Ser Pro Ser Leu Glu Glu Lys	
35 40 45	
CTG AAG TCC TTC AAA GCT GCA CTG ATT GCC CTT TAC CTC CTC GTG	180
Leu Lys Ser Phe Lys Ala Ala Leu Ile Ala Leu Tyr Leu Leu Val	
50 55 60	
TTT GCA GTT CTC ATC CCT CTC ATT GGA ATA GTG GCA GCT CAA CTC	225
Phe Ala Val Leu Ile Pro Leu Ile Gly Ile Val Ala Ala Glu Leu	
65 70 75	
CTG AAG TGG GAA ACG AAG AAT TGC TCA GTT AGT TCA ACT AAT GCA	270
Leu Lys Trp Glu Thr Lys Asn Cys Ser Val Ser Ser Thr Asn Ala	
80 85 90	
AAT GAT ATA ACT CAA AGT CTC ACG GGA AAA GGA AAT GAC AGC GAA	315
Asn Asp Ile Thr Glu Ser Leu Thr Gly Lys Gly Asn Asp Ser Glu	
95 100 105	
GAG CAA ATG AGA TTT CAA GAA GTC TTT ATG GAA CAC ATG AGC AAC	360
Glu Glu Met Arg Phe Glu Glu Val Phe Met Glu His Met Ser Asn	
110 115 120	
ATG GAG AAG AGA ATC CAG CAT ATT TTA GAC ATG GAA GCC AAC CTC	405
Met Glu Lys Arg Ile Glu His Ile Leu Asp Met Glu Ala Asn Leu	
125 130 135	
ATG GAC ACA GAG CAT TTC CAA AAT TTC AGC ATG ACA ACT GAT CAA	450
Met Asp Thr Glu His Phe Glu Asn Phe Ser Met Thr Thr Asp Glu	
140 145 150	

9

AGA TTT AAT GAC ATT CTT CTG CAG CTA AGT ACC TTG TTT TCC TCA Arg Phe Asn Asp Ile Leu Leu Glu Leu Ser Thr Leu Phe Ser Ser	155	160	165	495
GTC CAG GGA CAT GGG AAT GCA ATA GAT GAA ATC TCC AAG TCC TTA Val Glu Gly His Asn Ala Ile Asp Glu Ile Ser Lys Ser Leu	170	175	180	540
ATA AGT TTG AAT ACC ACA TTG CTT GAT TTG CAG CTC AAC ATA GAA Ile Ser Leu Asn Thr Thr Leu Leu Asp Leu Glu Leu Asn Ile Glu	185	190	195	585
AAT CTG AAT GGC AAA ATC CAA GAG AAT ACC TTC AAA CAA CAA GAG Asn Leu Asn Gly Lys Ile Glu Asn Thr Phe Lys Glu Glu Glu	200	205	210	630
GAA ATC ACT AAA TTA GAG GAG CGT GTT TAC AAT GTA TCA GCA GAA Glu Ile Ser Lys Leu Glu Glu Arg Val Tyr Asn Val Ser Ala Glu	215	220	225	675
ATT ATG GCT ATG AAA GAA GAA CAA GTG CAT TTG GAA CAG GAA ATA Ile Met Ala Met Lys Glu Glu Glu Val His Leu Glu Glu Glu Ile	230	235	240	720
AAA GGA GAA GTG AAA GTA CTG AAT AAC ATC ACT AAT GAT CTC AGA Lys Gly Glu Val Lys Val Leu Asn Asn Ile Thr Asn Asp Leu Arg	245	250	255	765
CTG AAA GAT TGG GAA CAT TCT CAG ACC TTG AGA AAT ATC ACT TTA Leu Lys Asp Trp Glu His Ser Glu Thr Leu Arg Asn Ile Thr Leu	260	265	270	810
ATT CAA GGT CCT CCT GGA CCC CCG GGT GAA AAA GGA GAT CGA GGT Ile Glu Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Glu Lys Gly Asp Arg Gly	275	280	285	855
CCC ACT GGA GAA AGT GGT CCA CGA GGA TTT CCA GGT CCA ATA GGT Pro Thr Gly Glu Ser Gly Pro Arg Gly Phe Pro Gly Pro Ile Gly	290	295	300	900
CCT CCG GGT CTT AAA CGT GAT CGG GGA GCA ATT GGC TTT CCT GGA Pro Pro Gly Leu Lys Gly Asp Arg Gly Ala Ile Gly Phe Pro Gly	305	310	315	945
AGT CGA GGA CTC CCA GGA TAT GCC GGA AGG CCA GGA AAT TCT CGA Ser Arg Gly Leu Pro Gly Tyr Ala Gly Arg Pro Gly Asn Ser Gly	320	325	330	990
CCA AAA GGC CAG AAA CGG GAA AAG CGG AGT GGA AAC ACA TTA ACT Pro Lys Gly Glu Lys Gly Glu Lys Gly Ser Gly Asn Thr Leu Thr	335	340	345	1035
CCA TTT ACG AAA GTT CGA CTG GTC GGT GGG AGC GGC CCT CAC GAG Pro Phe Thr Lys Val Arg Leu Val Gly Gly Ser Gly Pro His Glu	350	355	360	1080
GGG AGA GTG GAG ATA CTC CAC AGC GGC CAG TGG GGT ACA ATT TGT Gly Arg Val Glu Ile Leu His Ser Gly Glu Trp Gly Thr Ile Cys	365	370	375	1125
GAC GAT CGC TGG GAA GTG CGC GTT GGA CAG GTC GTC TGT AGG AGC Asp Asp Arg Trp Glu Val Arg Val Gly Glu Val Val Cys Arg Ser	380	385	390	1170

11

TTG GGA TAC CCA GGT GTT CAA GCC GTG CAC AAG GCA GCT CAC TTT
 Leu Gly Tyr Pro Gly Val Glu Ala Val His Lys Ala Ala His Phe
 395 400 405
 GGA CAA GGT ACT GGT CCA ATA TCG CTG AAT GAA GTG TTT TGT TTT
 Gly Glu Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu Val Phe Cys Phe
 410 415 420
 CGG AGA GAA TCA TCT ATT GAA GAA TGT AAA ATT CCG CAA TGG GGG
 Gly Arg Glu Ser Ser Ile Glu Glu Cys Lys Ile Arg Glu Trp Gly
 425 430 435
 ACA AGA GCC TGT TCA CAT TCT GAA GAT GCT GGA GTC ACT TGC ACT
 Thr Arg Ala Cys Ser His Ser Glu Asp Ala Gly Val Thr Cys Thr
 440 445 450
 TTA TAATGCATCA TATTTTCATT CACAACATAG AAATCGCTGC TCAAAAATGA
 Leu
 TTTTATTACCTTGTTCCGT AAAATCCATT TAATCAATAT TTAAGAGATT 1453
 AAGAAATATG CCCAAATAAT ATTTAGATT ACAGGATTAA TATATTGAAC 1503
 ACCTTCATGC TTACTAATTT ATGTCATAT TTAATCATT TTAACTCTA 1553
 TAGGTTTTA AATGGAATTTC TCTAATATAA TGACTTATAT GCTGAATTGA 1603
 ACATTTGAA GTTTATAGCT TCCAGATTAC AAAGCCCAAG GGTAAATAGAA 1653
 ATGCATACCA GTAATGGCT CCAATTCTATA ATATGTTCAC CAGGAGATTA 1703
 CAATTTTTG CTCTCTTGT CTTCTGAATC TATTTAGTTG ATTTTAATTIA 1753
 CTTCCTGAAT AACCGAAGGG ATCAGAAGAT ATCTTTTGTG CCTAGATTGC 1803
 AAAATCTCCA ATCCACACAT ATTTGTTAA AATAAGAATG TTATCCACT 1853
 ATTAAGATAT CTCAATGTC AATAACTTGT GTATTAGATA TCAATGTTAA 1903
 TGATATGTC TGGCCACTAT GGACCAAGGA GCTTATTTT CTGTCATGT 1953
 ACTGACAATCTTAAATTGA ATCATGAAAG 1982

【0035】配列番号：2

鎖の数：二本鎖

配列の長さ：1301

トポロジ：直鎖状

配列の型：核酸

配列の種類：cDNA

配列

AGAGAACTGG ATAAATCACT GCTGCTTCT TTAGGACCAA AGAACT -1
 ATG GAG CAG TGG GAT CAC TTT CAC AAT CAA CAG GAG GAC ACT GAT 45
 Met Glu Glu Trp Asp His Phe His Asn Glu Glu Asp Thr Asp
 5 10 15
 ACC TGC TCC GAA TCT GTG AAA TTT GAT GCT CGC TCA ATG ACA GCT 90
 Ser Cys Ser Glu Ser Val Lys Phe Asp Ala Arg Ser Met Thr Ala
 20 25 30
 TTG CTT CCT CCG AAT CCT AAA AAC AGC CCT TCC CTT CAA GAG AAA 135
 Leu Leu Pro Pro Asn Pro Lys Asn Ser Pro Ser Leu Glu Lys
 35 40 45
 CTG AAG TCC TTC AAA GCT GCA CTG ATT GCC CTT TAC CTC CTC GTG 180
 Leu Lys Ser Phe Lys Ala Ala Leu Ile Ala Leu Tyr Leu Leu Val
 50 55 60
 TTT GCA-GTT CTC ATC CCT CTC ATT GGA ATA GTG GCA GCT CAA CTC 225
 Phe Ala Val Leu Ile Pro Leu Ile Gly Ile Val Ala Ala Glu Leu
 65 70 75
 CTG AAG TGG GAA ACG AAG AAT TGC TCA CTT AGT TCA ACT AAT GCA 270
 Leu Lys Trp Glu Thr Lys Asn Cys Ser Val Ser Ser Thr Asn Ala
 80 85 90
 AAT GAT ATA ACT CAA ACT CTC ACG GGA AAA GGA AAT GAC AGC GAA 315

12

1215

1260

1305

1350

1403

1453

1503

1553

1603

1653

1703

1753

1803

1853

1903

1953

1982

13

Asn Asp Ile Thr Gln Ser Leu Thr Gly Lys Gly Asn Asp Ser Glu

95 100 105

GAG GAA ATG AGA TTT CAA GAA GTC TTT ATG GAA CAC ATG AGC AAC 360

Glu Glu Met Arg Phe Gln Glu Val Phe Met Glu His Met Ser Asn

110 115 120

ATG GAG AAG AGA ATC CAG CAT ATT TTA GAC ATG GAA GCC AAC CTC 405

Met Glu Lys Arg Ile Gln His Ile Leu Asp Met Glu Ala Asn Leu

125 130 135

ATG GAC ACA GAG CAT TTC CAA AAT TTC AGC ATG ACA ACT GAT CAA 450

Met Asp Thr Glu His Phe Gln Asn Phe Ser Met Thr Thr Asp Gln

140 145 150

AGA TTT AAT GAC ATT CTT CTG CAG CTA AGT ACC TTG TTT TCC TCA 495

Arg Phe Asn Asp Ile Leu Leu Gln Leu Ser Thr Leu Phe Ser Ser

155 160 165

GTC CAG GGA CAT GGG AAT GCA ATA GAT GAA ATC TCC AAG TCC TTA 540

Val Gln Gly His Asn Ala Ile Asp Glu Ile Ser Lys Ser Leu

170 175 180

ATA ACT TTG AAT ACC ACA TTG CTT GAT TTG CAG CTC AAC ATA GAA 585

Ile Ser Leu Asn Thr Thr Leu Leu Asp Leu Gln Leu Asn Ile Glu

185 190 195

AAT CTG AAT GGC AAA ATC CAA GAG AAT ACC TTC AAA CAA CAA GAG 630

Asn Leu Asn Gly Lys Ile Gln Glu Asn Thr Phe Lys Gln Gln Glu

200 205 210

GAA ATC AGT AAA TTA GAG GAG CGT CTT TAC AAT GTA TCA GCA GAA 675
Glu Ile Ser Lys Leu Gln Glu Arg Val Tyr Asn Val Ser Ala Glu

215 220 225

ATT ATG GCT ATG AAA GAA GAA CAA GTG CAT TTG GAA CAG GAA ATA 720
Ile Met Ala Met Lys Gln Glu Gln Val His Leu Glu Gln Glu Ile

230 235 240

AAA GGA GAA GTG AAA GTA CTG AAT AAC ATC ACT AAT GAT CTC AGA 765
Lys Gly Glu Val Lys Val Leu Asn Asn Ile Thr Asn Asp Leu Arg

245 250 255

CTG AAA GAT TGG GAA CAT TCT CAG ACC TTG AGA AAT ATC ACT TTA 810
Leu Lys Asp Trp Glu His Ser Gln Thr Leu Arg Asn Ile Thr Leu

260 265 270

ATT CAA GGT CCT CCT GGA CCC CCG GGT GAA AAA GGA GAT CGA GGT 855
Ile Gln Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Glu Lys Gly Asp Arg Gly

275 280 285

CCC ACT GGA GAA AGT GGT CCA CGA GGA TTT CCA GGT CCA ATA GGT 900
Pro Thr Gly Glu Ser Gly Pro Arg Gly Phe Pro Gly Pro Ile Gly

290 295 300

CCT CCG GGT CTT AAA GGT GAT CGG GGA GCA ATT GGC TTT CCT GGA 945
Pro Pro Gly Leu Lys Gly Asp Arg Gly Ala Ile Gly Phe Pro Gly

305 310 315

AGT CGA GGA CTC CCA GGA TAT GCC GGA AGG CCA GGA AAT TCT GGA 990
Ser Arg Gly Leu Pro Gly Tyr Ala Gly Arg Pro Gly Asn Ser Gly

320 325 330

CCA AAA GGC CAG AAA GGG GAA AAG CGG AGT GGA AAC ACA TTA AGA 1035
Pro Lys Gly Gln Lys Gly Glu Lys Gly Ser Gly Asn Thr Leu Arg

15

335

340

345

16

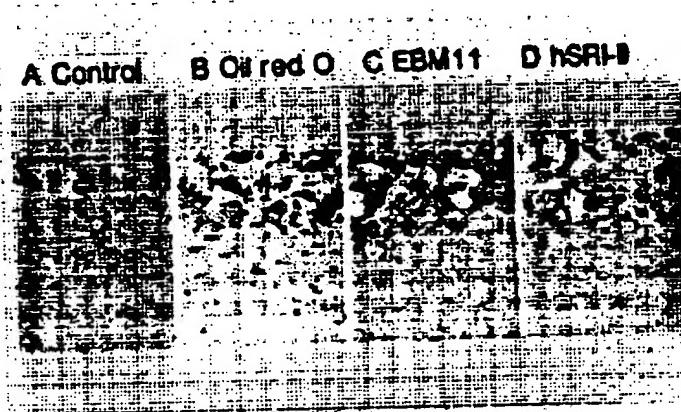
CCA GTA CAA CTC ACT GAT CAT ATT AGG GCA GGG CCC TCT Pro Val Glu Leu Thr Asp His Ile Arg Ala Gly Pro Ser	1074
350	355
TAAGATCAGG TGGGTGGGC GGGACATCCT CTGCTTACCAT CTCATTAAAA	1124
GGCCCTTCAC CTCTGGACAA GTCATCTGCCA ACAACTGACT TCCAAAGATCC	1174
TTTTGTGACT CCTCCAAATG ACTTGGTTC CGGTGTTGTA CCTGACTTCC	1224
ACATGGCCTT CTCTCTGGT CCCTGGTGT GTTTGGCCT CTGCTCCAT	1274
GCTCATACCT CTTCCTACTC CAATTAC	1301

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、本発明の抗体がマクロファージに特異的に結合することを示す、生物の形態を表す図面に代わる写真である。

【図2】図2は、本発明の抗体を用いてヒトスカベンジヤーレセプターの細胞内局在を免疫電子顕微鏡法により観察した結果を示し、生物の形態を示す図面に代わる写真である。

【図1】

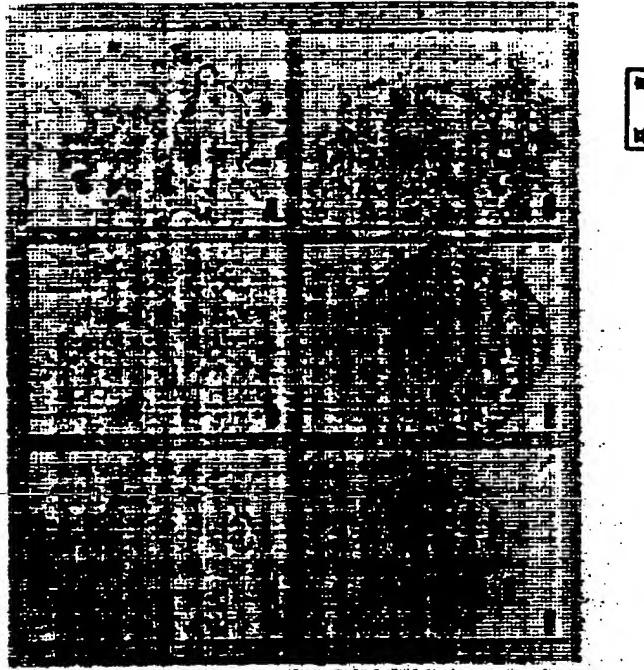


写真代用

写 真

【図2】

国頭代用零萬



フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁵ 識別記号 施内整理番号 F I 技術表示箇所
// A 61 K 39/395 D 8413-4C
N 8413-4C
C 12 N 5/20
15/06
(C 12 P 21/08
C 12 R 1:91)